

# 山西小麦地方品种四月黄抗白粉病基因的遗传分析与分子定位

牛慧珍<sup>1</sup>, 任永康<sup>2</sup>, 唐朝晖<sup>2</sup>, 张晓军<sup>2</sup>, 牛瑜琦<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>晋中市农业种业繁育改良站, 山西晋中 030600; <sup>2</sup>山西农业大学农学院, 山西太原 030031)

**摘要:** 小麦白粉病是一种严重危害小麦生产的真菌病害, 从现有资源中鉴定抗病种质并挖掘新的抗病基因是持续改良小麦抗病性的重要途径。本研究从山西省小麦种质资源中鉴定出一个抗白粉病小麦地方品种四月黄, 采用苗期单小种人工接种的方法对四月黄与晋麦 47 构建的遗传群体进行抗性鉴定和遗传分析, 并采用分离群体分组分析法 (bulked segregant analysis, BSA) 和 90K SNP (single nucleotide polymorphism) 芯片扫描对四月黄携带的抗病基因进行定位。结果表明: 四月黄对白粉病的抗性受一对显性核基因控制, 遗传方式符合孟德尔遗传规律, 暂命名为 *PmSYH*。SNP 芯片结果显示, 多态性 SNP 标记主要富集在小麦 7D 染色体短臂 110 Mb ~ 140 Mb 区段。在该区段开发 SSR (Simple Sequence Repeats) 分子标记并利用抗、感病小群体进行连锁性筛选, 利用 6 个与 *PmSYH* 连锁的 SSR 标记对晋麦 47/四月黄的 F<sub>2</sub> 群体进行基因分型, 将 *PmSYH* 定位于位于 7D 染色体上 132.57 Mb ~ 137.47 Mb 的物理区段, 两侧标记分别为 *Sxau7DS-37* 和 *Sxau7DS-48*, 遗传距离分别为 1.8 cM 和 3.1 cM。与前人定位结果比较分析表明, *PmSYH* 是一个新的抗白粉病基因。本研究为小麦抗白粉病育种提供了新的基因资源, 在北部冬麦区小麦白粉病抗性改良中具有一定的利用价值。

**关键词:** 普通小麦, 地方品种, 白粉病, 抗病基因, 分子定位

## Genetic analysis and molecular mapping of powdery mildew resistance genes of Siyuehuang, a local wheat variety in Shanxi Province

NIU Huizhen<sup>1</sup>, REN Yongkang<sup>2</sup>, TANG Chaohui<sup>2</sup>, ZHANG Xiaojun<sup>2</sup>, NIU Yuqi<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Jinzhong Agricultural Seed Industry Breeding and Improvement Station; <sup>2</sup>College of Agricultural, Shanxi Agricultural University, Taiyuan 030031)

**Abstract:** Wheat powdery mildew is a fungal disease that impacts severely on production of wheat. Identification of wheat disease-resistant germplasm and exploiting of wheat powdery mildew resistance gene from existing resources is required for sustainable improvement in disease resistance. In this study, a local wheat variety Siyuehuang with resistance to powdery mildew was identified from wheat germplasm resources in Shanxi Province. The genetic populations of Siyuehuang crossed with the powdery mildew susceptible cultivars Jinmai47 was developed to identify and analyze by artificial inoculation of single species at seedling stage. The resistance gene carried from Siyuehuang was mapped by BSA (bulked segregant analysis) and 90K SNP (single nucleotide polymorphism) chip scanning. The results showed that the resistance of Siyuehuang to wheat powdery mildew was controlled by a pair of dominant nuclear genes, and the inheritance pattern was in accordance with Mendelian inheritance law, temporarily named *PmSYH*. SNP microarray results showed that polymorphic SNP markers were mainly concentrated in the 110 ~ 140 Mb segment of the short arm of wheat chromosome 7D. SSR (Simple Sequence Repeats) molecular markers were developed in this genomic section, and linkage screening was performed by using resistant

第一作者研究方向为小麦品种选育和管理, E-mail: nhz1978@163.com

通讯作者: 牛瑜琦, 研究方向为小麦遗传育种, E-mail: 53276014@qq.com

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2022YFD1200901); 山西省小麦育种联合攻关 (NYGG26); 山西农业大学科技创新提升工程 (CXGC202305); 山西农业大学农学院育种工程专项 (YZ2021-0)

Foundation projects: National key R&D program of China (2022YFD1200901); Shanxi province wheat breeding joint research (NYGG26); Shanxi Agricultural University science and technology innovation enhancement project (CXGC202305); Breeding engineering project of College of Agriculture, Shanxi Agricultural University (YZ2021-0)

subpopulation and susceptible subpopulation. Six SSR markers linked to *PmSYH* were obtained, and the F<sub>2</sub> population of Jinmai 47 / Siyuehuang was genotyped using these 6 SSR markers. Finally, the Powdery mildew Resistant gene *PmSYH* was mapped in the physical section 132.57 Mb ~ 137.47 Mb on the short arm of wheat chromosome 7D. The flanking marker were *Sxau7DS-37* and *Sxau7DS-48* with genetic distances 1.8cM and 3.1cM, respectively. Compared with other genes on wheat chromosome 7D, *PmSYH* is a new powdery mildew resistant gene. This study enriched wheat powdery mildew resistance gene resources, which has a certain value for the improvement of wheat powdery mildew in the northern winter wheat region.

**Keywords:** Common wheat, Local variety, Powdery mildew, Resistant disease genes, Molecular mapping

小麦 (*Triticum aestivum* L.) 是人类主要口粮作物之一, 全世界约有 35%-40% 的人口以小麦作为主要食物来源<sup>[1]</sup>。叶片作为小麦光合作用的主要器官, 为小麦生长发育提供了 95% 的能量<sup>[2]</sup>, 在小麦产量形成中起着至关重要的作用。由布氏白粉菌引发的白粉病是小麦生产中最重要病害之一, 在各个小麦种植区都有发生。禾本科布氏白粉菌 (*Blumeria graminis* f. sp. *Tritici* (Bgt)) 是一种专性活体寄生真菌, 侵染小麦叶片后, 可迅速在叶片表面形成一层白粉状霜霉孢子层, 不仅会遮挡阳光, 影响叶片的正常光合作用, 还会从叶片吸收水分和营养, 破坏细胞结构, 导致叶片提前衰老或死亡, 严重影响小麦的生长发育<sup>[3-4]</sup>, 发病严重时可使小麦减产 30% 以上<sup>[5]</sup>。近年来, 我国小麦生产中多数品种不抗白粉病或抗性较差<sup>[6]</sup>, 白粉病年发病面积约为 500 万 ~ 800 万 hm<sup>2</sup>, 严重影响小麦的高产和稳产<sup>[7]</sup>。由于生产上长期大量使用三唑酮等化学杀菌剂防治白粉病, 导致白粉菌群对杀菌剂的抗性快速上升<sup>[8]</sup>, 防治时不得不加大农药使用量, 进一步造成唑醇类药剂在土壤、水体和生物中大量富集, 严重影响生态环境的安全性<sup>[9-11]</sup>。

推广种植抗病品种是防控小麦白粉病的有效措施<sup>[12]</sup>, 不仅可以减少农药对环境的破坏, 也可节约生产成本, 增加经济收益。小麦品种对白粉病的抗性主要来源于其蕴含的抗白粉病基因, *Pm2*、*Pm4*、*Pm6*、*Pm8*、*Pm21*、*Pm24* 等抗白粉病基因都曾被广泛利用, 培育出大量优秀的抗病新品种, 有效抵御了白粉病的危害<sup>[13]</sup>。但由于小麦白粉菌致病菌株的快速变异, 抗病基因极易被新出现的白粉菌株克服, 导致其抗病性减弱或完全丧失<sup>[14]</sup>, 成为无效基因。据报道, *Pm1a*、*Pm2*、*Pm3a*、*Pm3b*、*Pm3f*、*Pm4a*、*Pm6*、*Pm8* 和 *Pm17* 等已在美国、澳大利亚、埃及等部分地区丧失抗性<sup>[15-17]</sup>。我国小麦推广品种中也只有 *Pm2*、*Pm4*、*Pm12*、*Pm13*、*Pm21*、*Pm52* 等少数主效基因具有有效抗性<sup>[18]</sup>, 其中 *Pm2* 和 *Pm4* 在部分地区也已经丧失抗性, *Pm52* 的抗性也在逐渐降低<sup>[19]</sup>。因此, 从现有小麦资源中鉴定抗病种质, 持续挖掘有效的抗白粉病基因, 丰富小麦的抗病基因库, 并将其应用到小麦抗病育种中, 以应对不断进化的小麦白粉菌株, 是小麦抗病品种选育和利用的迫切需求。

本研究从山西省小麦种质资源中鉴定出的一个抗白粉病小麦地方品种四月黄, 苗期和成株期都表现出优良的抗病性。利用其与感病品种晋麦 47 杂交构建的遗传群体进行抗病性遗传分析、SNP(single nucleotide polymorphism)芯片扫描和分子标记作图, 挖掘四月黄中携带的抗白粉病基因及

其遗传方式，为进一步有效利用其白粉病抗性提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

供试材料包括抗白粉病品种四月黄，感白粉病品种晋麦 47，及二者杂交构建的  $F_1$ 、 $F_2$ 、 $F_{2.3}$  和  $BC_1F_1$  群体。其中四月黄为山西农业大学农学院从山西省高平市收集的小麦地方品种，晋麦 47 为普通小麦品种，来自山西农业大学棉花研究所。以铭贤 169 为感病对照品种，来自山西农业大学农学院。抗病鉴定及遗传分析所用白粉病菌株为北部冬麦区流行小种 E09，来自中国农业科学院植物保护研究所。

### 1.2 白粉病抗性鉴定

在人工气候室内对实验材料进行了苗期抗白粉病鉴定，鉴定条件参考郭慧娟等<sup>[20]</sup>的方法。鉴定材料分别为四月黄、晋麦 47、以及四月黄和晋麦 47 构建的  $F_1$ 、 $F_2$ 、 $BC_1F_1$  和  $F_{2.3}$  家系。白粉菌繁殖、诱发及对照品种均为铭贤 169。

将实验材料播种在  $55\text{ cm} \times 28\text{ cm}$  的矩形育苗盘内，每个育苗盘有 72 个独立的孔穴，孔穴大小为  $4.5\text{ cm} \times 4.5\text{ cm}$ ，每穴播种 10 粒种子。为保证充分发病，在每个育苗盘中播种 6 穴感病对照铭贤 169，分布于育苗盘的四角及中间位置。四月黄和晋麦 47 相邻播种于育苗盘两侧各 2 穴。人工气候箱设置为  $21\text{ }^\circ\text{C}$  光照 14 h 和  $16\text{ }^\circ\text{C}$  黑暗 10 h 的光温周期，光照强度为 6000 lx，相对湿度为 65%~75%。播种 10 d 左右，当植株第一片叶子完全展开时，用提前培养好带有大量新鲜白粉菌 E09 孢子的铭贤 169 幼苗，将白粉菌孢子抖落接种于所有待鉴定材料上，并在上述条件下继续培养 10 d~15 d，待育苗盘上的铭贤 169 第一片叶子布满孢子时，对实验材料进行抗病性调查。按照盛宝钦<sup>[21]</sup>描述的记载标准，将所有植株的抗病反应型分为 0~4 级。其中 0 为免疫，叶片无孢子或坏死斑；0<sub>1</sub> 为近免疫，叶片无孢子，有坏死斑；1 为高抗，叶片上有少量稀疏的孢子或气生菌丝；2 为中抗，叶片上有少量孢子堆，菌落直径小于 1 mm；3 为中感，叶片上菌丝和孢子堆较多，菌落直径大于 1 mm；4 为高感，叶片上覆盖大量孢子堆。其中 0~2 级属于抗病类型，3~4 级属于感病类型<sup>[22]</sup>。

### 1.3 DNA 提取和 SNP 芯片扫描

在植株二叶一心时期，取幼嫩的小麦叶片 10 cm~15 cm，剪成小段后装入 2.0 ml 离心管中，并加入 2 颗直径 2 mm 左右的铅珠，盖好盖子在液氮中冷冻 5 min 左右，待叶片完全冷冻脆硬后，使用高通量组织研磨仪将叶片打成细粉状，之后采用改良的 CTAB 法<sup>[23]</sup>提取基因组 DNA。

采用分离群体分组分析法 (bulked segregant analysis, BSA) 从  $F_{2.3}$  家系选取 30 个纯合抗病家系 (反应型为 0 或 0<sub>1</sub>) 和 30 个纯合感病家系 (反应型为 4)，每个家系取等量 DNA 分别混合建立抗病池和感病池<sup>[24]</sup>，送往北京中玉金标记公司进行小麦 90 K 芯片<sup>[25]</sup>扫描。

## 1.4 分子标记开发与连锁图谱绘制

筛选在抗病池和感病池之间存在多态性且抗病池与抗病亲本一致、感病池与感病亲本一致的 SNP 标记，根据 SNP 标记分布的富集程度分析抗病基因所在染色体区段。从 Triticeae Multi-omics Center 网站 (<http://202.194.139.32/getfasta/index.html>) 获取该区段中国春参考基因组序列 IWGSC Ref Seq v2.1，利用 SSR Hunter v1.3 查找 SSR 序列，利用 Primer Premier v6.0 设计 SSR 引物，引物由生工生物工程（上海）有限公司合成。利用 PCR 扩增四月黄和晋麦 47，筛选二者之间扩增产物存在多态性的 SSR 引物，进一步扩增由 10 株抗病单株和 10 株感病单株组成的小群体，筛选与抗病基因连锁的分子标记。

PCR 反应体系和扩增程序参照张晓军等<sup>[26]</sup>描述的方法。扩增产物在 8% 非变性聚丙烯酰胺凝胶<sup>[27]</sup>上 220 V 电泳 40 min，硝酸银染色并进行标记分型。对 F<sub>2</sub> 群体的基因型数据进行赋值，与抗病亲本带型相同的记作 A，与感病亲本带型相同的记作 B，同时含有两亲本带型的记作 H，将分子标记检测结果与白粉病抗性鉴定结果导入软件 Joinmap 4.0 中 (<https://www.kyazma.nl/index.php/JoinMap/Updates/#JM4>)，利用 Independence LOD (Start: 0.5, End: 10.0, Step: 1.0) 和 Kosambi 函数计算抗病基因与标记间的遗传距离 (cM)，并构建遗传连锁图谱。

## 2 结果与分析

### 2.1 抗病性遗传分析

抗病性接种鉴定结果见表 1。四月黄对白粉菌菌株 E09 表现为免疫或近免疫 (0 或 0;)，晋麦 47 表现为高感 (图 1)。正交晋麦 47 / 四月黄或反交四月黄/晋麦 147 的 169 株 F<sub>1</sub> 植株全部表现为免疫或近免疫，与抗病亲本四月黄的抗病表现型一致。以晋麦 47 为回交亲本的 BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub> 群体中有 59 株表现为抗病，60 株表现为感病，卡方检验抗感分离比例符合 1:1 的理论值 ( $\chi^2 = 0.16$ ,  $P = 0.42$ )，说明四月黄中携带的抗白粉病基因为显性核基因。在晋麦 47 / 四月黄的 352 株 F<sub>2</sub> 群体植株中，有 263 株表现为抗病 (0~2)，89 株表现为感病 (3~4)，卡方检验抗感分离比例符合 3:1 的理论值 ( $\chi^2 = 0.07$ ,  $P = 0.28$ )。上述结果表明四月黄的白粉病抗性遗传方式符合孟德尔遗传规律，说明其受 1 对显性核基因控制，暂将其命名为 *PmSYH*。

表 1 四月黄、晋麦 47 及其遗传群体对白粉菌株 E09 的抗性反应

Table 1 Resistance reaction to *bgt* E09 of Siyuehuang, Jinmai 47 and their generation groups

亲本/组合 Parents/Cross	抗病植株数目 Number of resistant plants				感病植株数目 Number of susceptible plants			预期分离比 Expected ratio of segregation	$\chi^2$	P
	0	0;	1	2	合计 Total	3	4			
四月黄 (P <sub>1</sub> )	33	7	-	-	40	-	-	-	-	-

晋麦 47 (P <sub>2</sub> )	-	-	-	-	-	-	40	40	-	-	-
铭贤 169	-	-	-	-	-	-	120	120	-	-	-
F <sub>1</sub> (P <sub>2</sub> / P <sub>1</sub> )	65	24	-	-	89	-	-	-	-	-	-
F <sub>2</sub> (P <sub>2</sub> / P <sub>1</sub> )	92	46	122	3	263	43	46	89	3:1	0.16	0.42
F <sub>1</sub> (P <sub>1</sub> / P <sub>2</sub> )	71	9	-	-	80	-	-	-	-	-	-
BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> (P <sub>2</sub> /P <sub>1</sub> // P <sub>2</sub> )	33	26	0	0	59	41	19	60	1:1	0.07	0.28

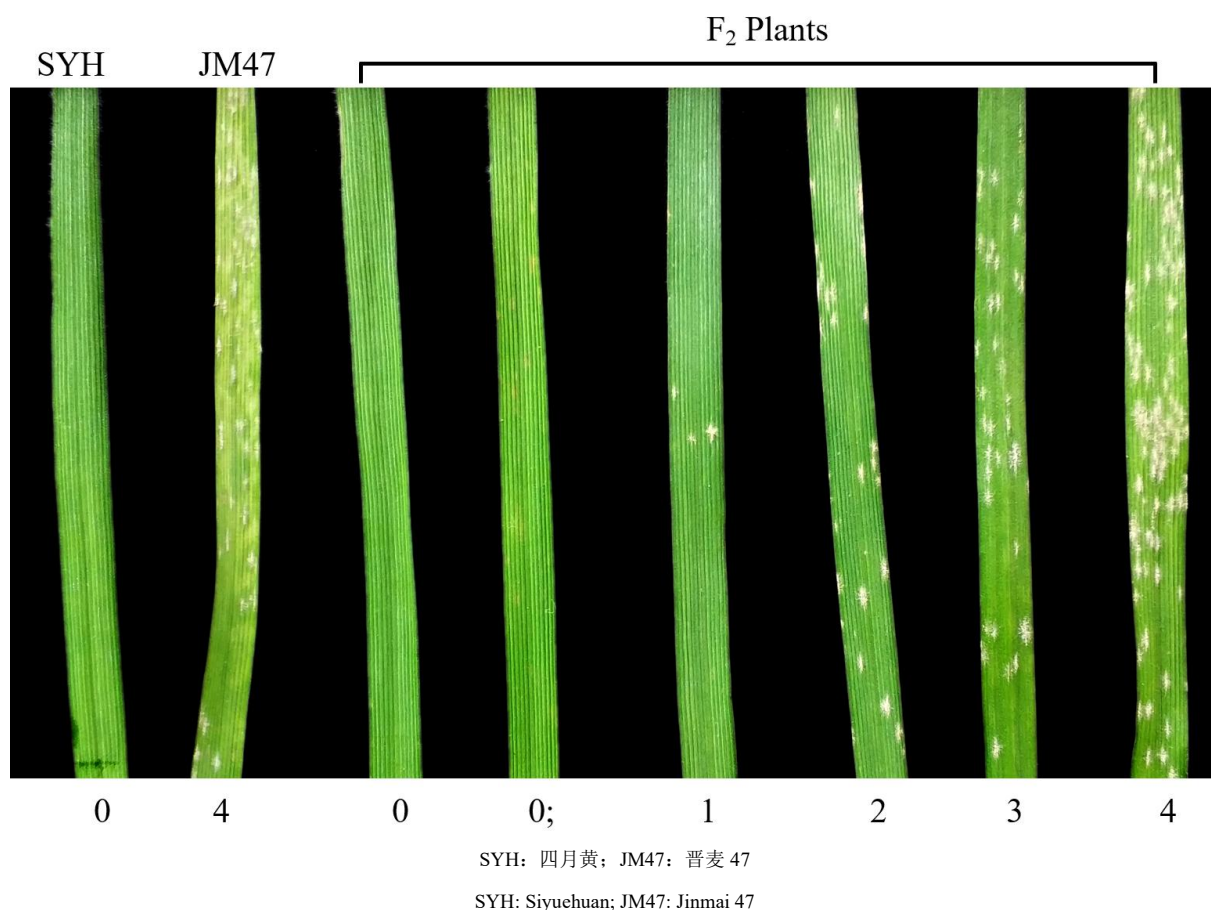


图 1 四月黄、晋麦 47 及其 F<sub>2</sub> 群体对白粉菌 E09 的抗性反应

Fig. 1 Resistant reaction of Siyuehuang, Jinmai 47 and their F<sub>2</sub> populations to *Pst* E09

## 2.2 SNP 芯片结果分析

利用小麦 90 K SNP 芯片进行 BSA 分析。结果(表 2)显示,共有 133 个 SNP 标记在晋麦 47/ 四月黄群体的抗感病池与亲本之间表现出一致的多态性,其中 64 个位于 7D 染色体,占总数的 48.1%,其它 20 条染色体上也都有分布,但数量较少,因此推测 *PmSYH* 较大可能位于 7D 染色体上。

通过对 7D 染色体上多态性 SNP 标记的分布情况进行分析可知(图 2),有 25 个标记集中分布于 110 Mb ~ 140 Mb 区段内,有 10 个标记集中分布于 570 Mb ~ 610 Mb 区段内,其它标记分布比较分散。由此推测, *PmSYH* 很可能位于 110 Mb ~ 140Mb 区段或 570 Mb ~ 610 Mb 区段。

表 2 小麦染色体上多态性 SNP 的数目

Table 2 Number of polymorphic SNPs on wheat chromosomes

染色体 Chromosome	多态性 SNP 数目 Number of polymorphic SNP	SNP 总数 Number of SNP	染色体长度 Chromosome length(Mb)	多态性 SNPs 比例(%) Proportion of polymorphic SNP(%)
Chr1A	3	2400	594.10	0.13
Chr1B	3	2957	689.85	0.10
Chr1D	1	2078	495.45	0.05
Chr2A	3	2956	780.80	0.10
Chr2B	8	4144	801.26	0.19
Chr2D	4	2480	651.85	0.16
Chr3A	1	2367	750.84	0.04
Chr3B	8	2748	830.83	0.29
Chr3D	1	1734	615.55	0.06
Chr4A	1	2132	744.59	0.05
Chr4B	2	1995	673.62	0.10
Chr4D	0	1279	509.86	0.00
Chr5A	4	2562	709.77	0.16
Chr5B	7	3124	713.15	0.22
Chr5D	0	2031	566.08	0.00
Chr6A	4	2277	618.08	0.18
Chr6B	1	2502	720.99	0.04
Chr6D	1	1580	473.59	0.06
Chr7A	5	2746	736.71	0.18
Chr7B	12	2453	750.62	0.49
Chr7D	64	2002	638.69	3.20
Total	133	50547	14066.28	0.26

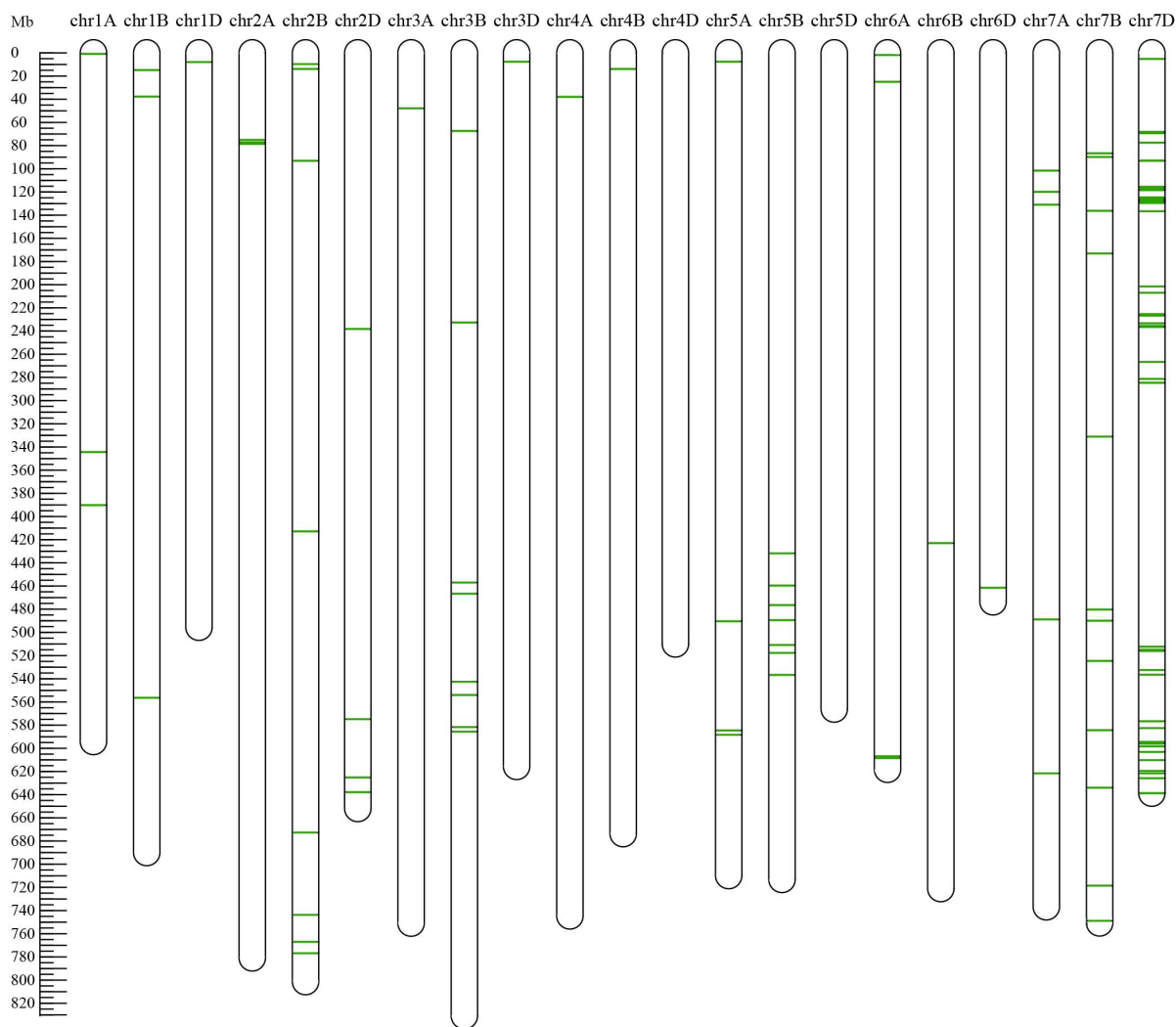


图 2 多态性 SNP 在小麦染色体上的分布

Fig. 2 Distribution of polymorphic SNPs on wheat chromosomes

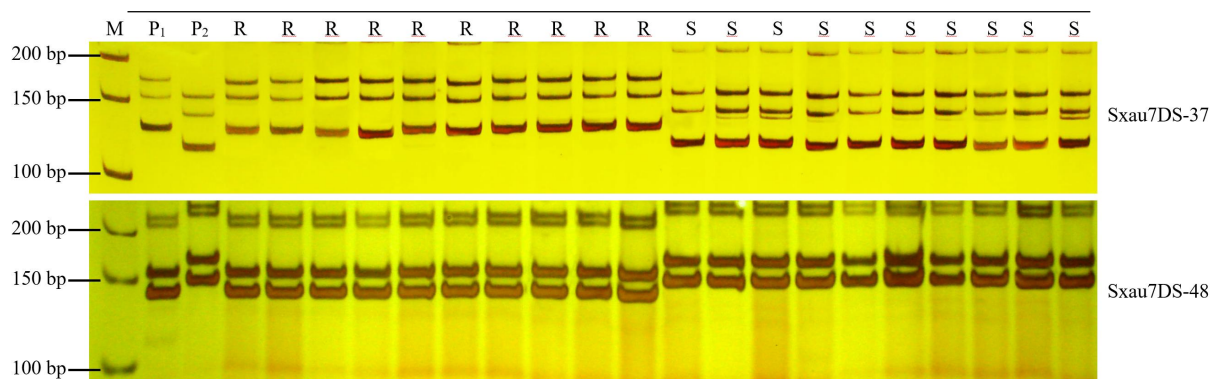
### 2.3 分子标记开发与连锁图谱绘制

为了进一步确定 *PmSYH* 在 7D 染色体上的准确位置，参考中国春基因组序列 IWGSC Ref Seq v2.1，在上述 2 个区段，每隔 500 Kb 左右开发一个 SSR 标记，在 110 Mb ~ 140 Mb 区段共开发 63 个标记，在 570 Mb ~ 610 Mb 区段共开发 80 个标记。从晋麦 47 / 四月黄的 F<sub>2</sub> 群体内，分别选取 10 株纯合抗病植株和 10 株纯合感病植株构建抗、感病小群体，加上抗、感病亲本作为对照进行 PCR 扩增。结果从 110 Mb ~ 140 Mb 区段的 63 个标记中筛选出 6 个与抗病基因连锁的 SSR 标记，分别为 *Sxau7DS-12*、*Sxau7DS-23*、*Sxau7DS-35*、*Sxau7DS-37*、*Sxau7DS-48* 和 *Sxau7DS-60*（标记的引物信息见表 3），其中标记 *Sxau7DS-37* 和 *Sxau7DS-48* 的扩增结果如图 3。而在 570 Mb ~ 610 Mb 区段的 80 个标记与抗病基因均不连锁。因此，可以断定四月黄携带的抗白粉病基因 *PmSYH* 位于 7D 染色体的 110 Mb ~ 140 Mb 区段内或其附近。

表 3 与 *PmSYH* 连锁的 SSR 分子标记

Table 3 Molecular markers linked with *PmSYH*

标记名称 Marker name	引物序列(5'-3') Primer sequence (5'-3')	产物大小(bp) Product size(bp)	退火温度(°C) Tm(°C)
<i>Sxau7DS-12</i>	GACGCCCGCTTTGTAATCTA	149	55
	GTCGGGATCGAGTCGACGG		
<i>Sxau7DS-23</i>	GAAAGCAAACAGGAGGCAT	376	58
	CGTATATGTGAATTGTAT		
<i>Sxau7DS-35</i>	TAAAGTGACGTTCTTTTCGCATT	166	58
	GGATAAAATATAAAAGGGA		
<i>Sxau7DS-37</i>	CAACACACTCCCCTCTCGTT	126	60
	CCCACAACCTTTGTGTTCT		
<i>Sxau7DS-48</i>	TCTCTCTTCTTAGTGGGGA	148	55
	GCCTCTCCTCGGAGCCAC		
<i>Sxau7DS-60</i>	CCTCCTCCATTTAGGGATA	159	58
	TCTTGATGATCTATATAG		



M: Marker; P<sub>1</sub>: 四月黄; P<sub>2</sub>: 晋麦 47; R: 抗病植株; S: 感病植株

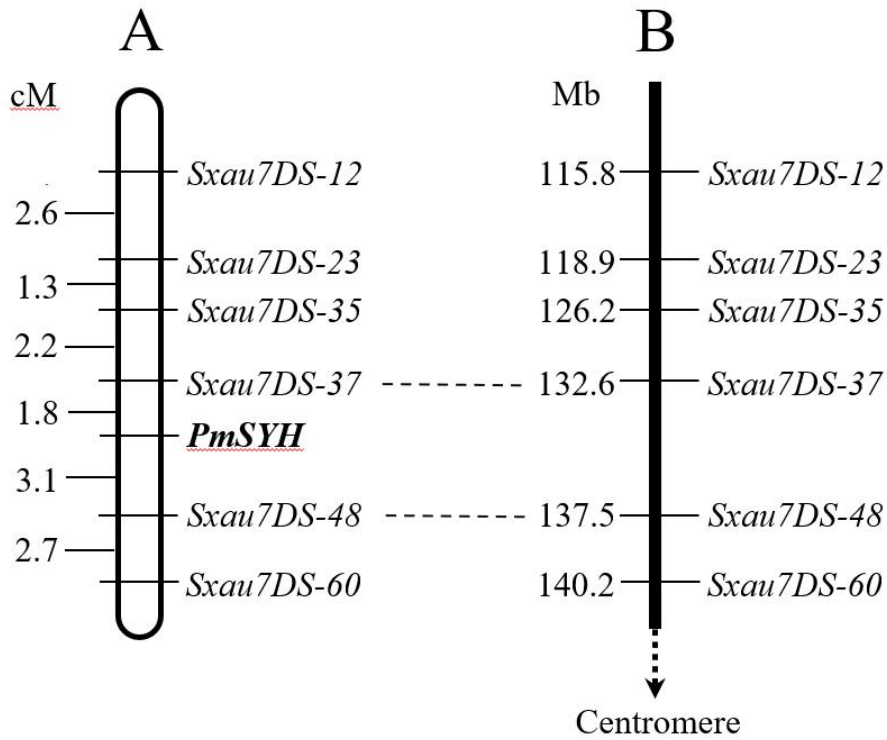
M: Marker; P<sub>1</sub>: Siyuehuang; P<sub>2</sub>: Jinmai 47; R: Resistant Plant; S: Susceptible plant

图 3 *PmSYH* 两侧连锁标记在 F<sub>2</sub> 群体中的扩增图谱

Fig. 3 Amplification profiles of adjacent SSRs at both sides of *PmSYH* in F<sub>2</sub> population

根据晋麦 47 / 四月黄 352 个 F<sub>2</sub> 群体的基因分型和表型结果，利用 Join map v4.0 软件中计算遗传距离。结果如图 4 所示，抗白粉病基因 *PmSYH* 两侧最近的连锁标记分别为 *Sxau7DS-37* 和 *Sxau7DS-48*，与 *PmSYH* 的遗传距离分别为 1.8 cM 和 3.1 cM。根据 *Sxau7DS-37* 和 *Sxau7DS-48* 的物理位置，将 *PmSYH* 定位于 7D 染色体上 132.57 Mb ~ 137.47 Mb 区间。





A: *PmSYH* 的遗传连锁图; B: *PmSYH* 连锁标记在小麦 7DS 染色体上的物理图谱

A: Genetic linkage map of *PmSYH*; B: Physical map of *PmSYH* linked markers on wheat 7DS chromosome

图 4 *PmSYH* 的遗传图谱和物理图谱

Fig. 4 Genetic and physical maps of *PmSYH*

### 3 讨论

#### 3.1 *PmSYH* 与 7D 染色体上其它抗白粉病基因的关系

迄今为止, 国内外科学家已从小麦及其近缘种中发现并定位了 100 多个抗白粉病基因<sup>[28]</sup>, 其中 69 个基因被正式命名 (*Pm1* ~ *Pm69*)<sup>[29]</sup>。在小麦的 21 对染色体上, 分布着数量不等的抗白粉病基因<sup>[30]</sup>, 其中 7D 染色体上有 6 个基因, 分别为位于 7DS 的 *Pm15*、*Pm38*<sup>[31]</sup>、*MINCD1*<sup>[32]</sup>和 *PmAF7DS*<sup>[33]</sup>, 位于 7DL 的 *Pm19* 和 *Pm29*。而本研究鉴定出的抗白粉病基因 *PmSYH* 位于 7DS 染色体上, 为了明确 *PmSYH* 是否为新的抗病位点, 利用同位于 7DS 染色体上 *Pm38*、*MINCD1* 和 *PmAF7DS* 的连锁标记进行多态性检测。从 NCBI 网站 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>) 获取 *Pm38*、*MINCD1* 和 *PmAF7DS* 的连锁标记的引物信息, 引物合成后在晋麦 47 / 四月黄的抗、感小群体中进行 PCR 扩增并进行连锁性分析。结果显示, *Pm38* 的连锁标记 *Xbarc352*、*Xgwm1220*、*Xswm10*、*XcsLV34*, *MINCD1* 的连锁标记 *Xgwm635*、*Xgwp328*、*Xcfd41* 和 *PmAF7DS* 的连锁标记 *Xgwm350a*、*Xbarc184*、*Xgwm111* 与 *PmSYH* 均无明显连锁关系。由 Reddy 等<sup>[33]</sup>的研究可知, *MINCD1*、*PmAF7DS* 和 *Pm38* 的遗传距离较近, 均

位于 7DS 染色体上 100 Mb 的位置附近，而 *PmSYH* 位于 7D 染色体上 132.57 Mb ~ 137.47 Mb 区段，与 *Pm38* 等 3 个基因的距离较远，且无法与它们整合到同一张遗传图上，因此推断它们为不同的等位基因位点。根据 Tosa 等<sup>[34]</sup>的报道，*Pm15* 来源于节节麦，仅对冰草白粉病具有抗性，对小麦白粉病不具有抗性。Reddy 等<sup>[33]</sup>认为在 Chinese Spring 和 Chancellor 中都含有 *Pm15*，而 Chinese Spring 和 Chancellor 对 E09 都表现为感病。本研究表明，四月黄为普通小麦，对 E09 表现为抗病，可知 *PmSYH* 与 *Pm15* 的来源与抗谱均不相同。因此，*PmSYH* 不同于 7DS 染色体上其它抗病基因，是一个新的抗白粉病基因。

### 3.2 *PmSYH* 在小麦育种中的应用潜力

我国是小麦白粉病的高发地区，国内 80 % 以上的主推品种对白粉病抗性较差<sup>[35]</sup>。因此，尽快选育抗病品种就成为小麦育种家面临的紧迫任务。而从现有资源中挖掘抗病种质，鉴定并利用有效的抗病基因则是培育抗病小麦品种的重要途径。根据抗病基因的来源，可将其分为三类。第一类来自普通小麦，属于小麦的一级基因库，包括 48 个正式命名的抗白粉病基因或等位基因，占正式命名基因的 50.5%。第二类来自与小麦有一个或两个共同基因组的近缘物种，属于小麦的二级基因库，包括 23 个正式命名的抗白粉病基因或等位基因，占正式命名基因的 24.2%。第三类来自黑麦属 (*Secale*)、偃麦草属 (*Thinopyrum*)、簇毛麦属 (*Daspyrum*) 和冰草属 (*Agropyron*) 等与普通小麦没有共同基因组的野生近缘物种，属于小麦的三级基因库，包括 24 个正式命名的抗白粉病基因或等位基因，占正式命名基因的 25.3%。然而，来源于野生近缘种的基因常由于不良基因连锁导致农艺性状较差，或与小麦基因组亲和性低，难以直接在小麦生产上应用<sup>[36]</sup>。例如，来源于簇毛麦的 *Pm21* 是 20 世纪 90 年代初被发现并转移到小麦上的抗病基因<sup>[37]</sup>，对小麦白粉病的绝大多数菌株都具有非常好的抗性，但直到 20 年后含有 *Pm21* 的优良选育品种（系）才在黄淮麦区生产上推广应用<sup>[38]</sup>。而来源于普通小麦的抗病基因则可以通过常规杂交或回交直接应用于育种实践。因此，从普通小麦中挖掘的新基因无疑更加易于利用。地方品种是我国劳务人民在特定的环境条件下经过长期人工和自然选择获得的普通小麦品种，保持了优异的抗病虫和抗逆特性，遗传多样性丰富，是小麦的一级基因源。在已鉴定出的抗白粉病基因中，有许多都来自地方品种，例如 *Pm2c*、*Pm3b*、*Pm4e*、*Pm5d*、*Pm5e*、*Pm24a*、*Pm24b*、*Pm45*、*Pm47*、*Pm59*、*Pm61*、*Pm63* 等<sup>[39]</sup>获得正式命名，还有 10 余个未正式命名的抗白粉病基因，如 *PmTm4*、*MLxbd*、*PmX*、*PmH*、*PmHYM*、*PmHLT*、*MLmz*、*PmBYYT*、*PmSGD*、*Pm223899*、*PmQ* 等<sup>[40]</sup>，被广泛用于小麦种质改良和抗病育种。四月黄是来自山西省高平市的一个地方品种，具有无芒、植株高大、分蘖旺盛等特性，在山西省高平市、晋中市田间自然栽培条件下，成株期对白粉病表现为中抗至高抗，苗期接种 E09 后表现为免疫或近免疫，说明其在小麦抗白粉病改良中具有利用价值。本研究从四月黄中定位了一个新的抗白粉病基因位点 *PmSYH*，并开发了两侧

与其紧密连锁的分子标记 *Sxau7DS-37* 和 *Sxau7DS-48*, 为 *PmSYH* 的育种应用提供了高效的选择工具。育种家在应用四月黄进行育种时, 应结合不同抗病基因整体布局, 提高其多样性, 降低对病害小种的选择压力, 延长抗病基因的使用寿命。

#### 参考文献:

- [1] Chaves M S, Martinelli J A, Wesp-Guterres C, Graichen F A S, Brammer S P, Scagliusi S M, da Silva P R, Wiethölter P, Torres G A M, Lau E Y, Luciano C, Ana L S C. The importance for food security of maintaining rust resistance in wheat. *Food Security*, 2013, 5:157-176
- [2] Zhai H Q, Cao S Q, Wan J M, Zhang R X, Lu W, Li L B, Kuang T Y, Min S K, Zhu D F, Cheng S H. Relationship between leaf photosynthetic function at grain filling stage and yield in super high-yielding hybrid rice (*Oryza sativa*. L). *Science China(Life Sciences)*, 2002, 45(6): 637-646
- [3] Kumar Y, Mishra S K, Tyagi M C, Singh S P, Sharma B. Linkage between genes for leaf colour, plant pubescence, number of leaf-lets and plant height in lentil (*Lens culinaris* Medik.). *Euphytica*, 2005, 145: 41-48
- [4] Wang Z H, Wang Y, Hong X, Hu D H, Liu C X, Yang J, Li Y, Huang Y Q, Feng Y Q, Gong H Y, Li Y, Fang G, Tang H R, Li Y S. Functional inactivation of UDP-N-acetylglucosamine pyrophosphorylase 1 (UAP1) induces early leaf senescence and defence responses in rice. *Journal of Experimental Botany*, 2014, 66(3): 973-987
- [5] 陈芳, 乔麟轶, 李锐, 刘成, 李欣, 郭慧娟, 张树伟, 常利芳, 李东方, 阎晓涛, 任永康, 张晓军, 畅志坚. 小麦新种质 CH1357 抗白粉病遗传分析及染色体定位. *作物学报*, 2019, 45(10): 1503-1510  
Chen F, Qiao L Y, Li R, Liu C, Li X, Guo H J, Zhang S W, Chang L F, Li D F, Yan X T, Ren Y K, Zhang X J, Chang J. Genetic analysis and chromosomal localization of powdery mildew resistance gene in wheat germplasm CH1357. *Acta Agronomica Sinica*, 2019, 45(10): 1503-1510
- [6] 原宗英, 武英鹏, 夏宏, 张治家, 夏青. 山西小麦品种和育种材料抗锈病、白粉病鉴定. *中国植保导刊*, 2017, 37(2): 15-18  
Yuan Z Y, Wu Y P, Xia H, Zhang Z J, Xia Q. Evaluation of Shanxi wheat cultivars for resistance to wheat stripe rust, leaf rust and powdery mildew. *China Plant Protection*, 2017, 37(2): 15-18
- [7] 黄冲, 姜玉英, 李春广. 1987年-2018年我国小麦主要病虫害发生危害及演变分析. *植物保护*, 2020, 46(6): 186-193  
Hang C, Jiang Y Y, Li C G. Occurrence, yield loss and dynamics of wheat diseases and insect pests in China from 1987 to 2018. *Plant Protection*, 2020, 46(6): 186-193
- [8] 刘敏捷, 原宗英, 李霞, 武英鹏, 周建波. 不同杀菌剂对小麦白粉病的田间防效. *中国植保导刊*, 2019, 39(6): 70-71  
Liu M J, Yuan Z Y, Li X, Wu Y P, Zhou J B. Field control effect of different fungicides on wheat powdery mildew. *China Plant Protection*, 2019, 39(6): 70-71
- [9] 郎漫, 李平, 蔡祖聪. 百菌清在土壤中的降解及其生态环境效应. *中国农学通报*, 2012, 25(15): 211-215  
Lang M, Li P, Cai Z C. The degradation of chlorothalonil in soil and its environmental implications. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2012, 25(15): 211-215
- [10] 吴文铸, 郭敏, 孔德洋, 许静, 单正军. 3种三唑类杀菌剂的环境降解特性. *生态与农村环境学报*, 2016, 32(5): 837-841  
Wu W T, Guo M, Kong D Y, Xu J, Shan Z J. Environmental degradation properties of 3 triazole fungicides. *Journal of Ecology and Rural Environment*, 2016, 32(5): 837-841
- [11] 李菊颖, 严伟强, 何健, 吴文铸, 孔德洋, 单正军. 戊唑醇在环境中的降解迁移和生物富集性研究. *生态毒理学报*, 2017, 12(4): 310-318  
Li J Y, Yan W Q, He J, Wu W Z, Kong D Y, Shan Z J. Degradation, migration and bioaccumulation of tebuconazole in the environment. *Asian Journal of Ecotoxicology*, 2017, 12(4): 310-318
- [12] 杨作民, 唐伯让, 沈成全, 夏先春. 小麦抗病育种的战略问题: 小麦对锈病和白粉病第二线抗源的建立和利用. *作物学报*, 1994, 20(4): 385-394  
Yang Z M, Tang B R, Shen K Q, Xia X C. Strategic issues in wheat disease resistance breeding: the establishment and utilization of wheat second-line resistance to rust and powdery mildew. *Acta Agronomica Sinica*, 1994, 20(4): 385-394
- [13] Wang W R, He H G, Gao H M, Xu H X, Song W Y, Zhang X, Zhang L P, Song J C, Liu C, Liu K C, Ma P T. Characterization of the powdery mildew resistance gene in wheat breeding line KN0816 and its evaluation in marker-assisted selection. *Plant Disease*, 2021, 105(12): 4042-4050
- [14] Golzar H, Shankar M, D'Antuono M. Responses of commercial wheat varieties and differential lines to western Australian powdery mildew (*Blumeria graminis* f. Sp. *tritici*) populations. *Australasian Plant Pathology*, 2016, 45: 347-355

- [15] Parks R, Carbone I, Murphy J P, Marshall D, Cowger C. Virulence structure of the Eastern U.S. wheat powdery mildew population. *Plant Disease*, 2008, 92(7): 1074-1082
- [16] Singh R P, Singh P K, Rutkoski J, Hodson D P, He X, Jørgensen L N, Hovmöller M S, Espino J H. Disease Impact on wheat yield potential and prospects of genetic control. *Annual Review of Phytopathology*, 2016, 54: 303-322
- [17] Cowger C, Mehra L, Arellano C, Meyers E, Murphy J P. Virulence differences in *blumeria graminis* f. sp. *tritici* from the central and Eastern United States. *Phytopathology*, 2018, 108(3): 402-411
- [18] 董策, 张希太, 蔺桂芬, 肖磊, 李炎艳, 谢淑芹, 裴艳婷, 路其祥. 2013-2021 年河北省审冬小麦品种抗病性分析. *山西农业科学*, 2023, 51(3): 306-312
- Dong C, Zhang X T, Lin G F, Xiao L, Li Y Y, Xie S Q, Pei Y T, Lu Q X. Disease resistance analysis of the registered wheat varieties in Hebei Province from 2013 to 2021. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 2023, 51(3): 306-312
- [19] Chen F, Jia H Y, Zhang X J, Qiao L Y, Li X, Zheng J, Guo H J, Powers C, Yan L L, Chang Z J. Positional cloning of PmCH1357 reveals the origin and allelic variation of the *Pm2* gene for powdery mildew resistance in wheat. *The Crop Journal*, 2019, 7(6): 771-783
- [20] 郭慧娟, 贾举庆, 李欣, 乔麟轶, 阎晓涛, 任永康, 常利芳, 张树伟, 畅志坚, 张晓军. 小麦种质 CH7015 中抗白粉病基因的 SSR 定位. *华北农学报*, 2019, 34(6): 203-208
- Guo H J, Jia J Q, Li X, Qiao L Y, Yan X T, Ren Y K, Chang L F, Zhang S W, Chang Z J, Zhang X J. Mapping of resistance gene to powdery mildew in wheat cultivar CH7015 using SSR markers. *Acta Agriculturae Boreali-Sinica*, 2019, 34(6): 203-208
- [21] 盛宝钦. 用反应型记载小麦苗期白粉病. *植物保护*, 1988, 14(1): 49
- Sheng B Q. Powdery mildew at seedling stage of wheat was recorded by reaction type. *Plant Protection*, 1988, 14(1): 49
- [22] 李洪杰, 王晓鸣, 宋凤景, 伍翠平, 武小菲, 张宁, 周阳, 张学勇. 中国小麦品种对白粉病的抗性反应与抗病基因检测. *作物学报*, 2011, 37(6): 943-954.
- Li H J, Wang X M, Song F J, Wu C P, Wu X F, Zhang N, Zhou Y, Zhang X Y. Response to powdery mildew and detection of resistance genes in wheat cultivars from China. *Acta Agronomica Sinica*, 2011, 37(6): 943-954
- [23] 陈昆松, 李方, 徐昌杰, 张上隆, 傅承新. 改良 CTAB 法用于多年生植物组织基因组 DNA 的大量提取. *遗传*, 2004, 26(4): 529-531
- Chen K S, Li F, Xu C J, Zhang S L, Fu C X. An efficient macro-method of genomic DNA isolation from *actinidia chinensis* leaves. *Hereditas*, 2004, 26(4): 529-531
- [24] 杨文静, 乔麟轶, 李欣, 郭慧娟, 陈芳, 张树伟, 常利芳, 贾举庆, 畅志坚, 张晓军. 小麦抗条锈基因 *Yr69* 的连锁标记开发. *植物科学学报*, 2022, 40(2): 197-204.
- Yang W J, Qiao L Y, Li X, Guo H J, Chen F, Zhang S W, Chang L F, Jia J Q, Chang Z J, Zhang X J. Development of linkage markers for stripe rust resistance gene *Yr69* in *triticum aestivum*. *Plant Science Journal*, 2022, 40(2): 197-204
- [25] Wang S C, Wong D, Forrest K, Allen A, Chao S, Huang B E, Maccaferri M, Salvi S, Milner S G, Cattivelli L, Mastrangelo A M, Whan A, Stephen S, Barker G, Wieseke R, Plieske J, International Wheat Genome Sequencing Consortium, Lillemo M, Mather D, Appels R, Dolferus R, Brown G G, Korol A, Akhunova A R, Feuillet C, Salse J, Morgante M, Pozniak C, Luo M C, Dvorak J, Morell M, Dubcovsky J, Ganai M, Tuberosa R, Lawley C, Mikoulitch I, Cavanagh C, Edwards K J, Hayden M, Akhunov E, Characterization of polyploid wheat genomic diversity using a high-density 90000 single nucleotide polymorphism array. *Plant biotechnology journal*, 2014, 12(6), 787-796
- [26] 张晓军, 杨文静, 畅志坚, 常利芳, 闫贵云, 张树伟, 李欣, 乔麟轶, 郭慧娟, 雷梦林, 贾举庆, 穆志新. 小麦抗条锈病基因 *Yr69* 连锁标记在育种中的应用评价. *麦类作物学报*, 2021, 41(4): 417-423
- Zhang X J, Yang W J, Chang Z J, Chang L F, Yan G Y, Zhang S W, Li X, Qiao L Y, Guo H J, Lei M L, Jia J Q, Mu Z X. Evaluation on the application of molecular markers linked with the wheat stripe rust resistance gene *Yr69* in wheat breeding. *Journal of Triticeae Crops*, 2021, 41(4): 417-423
- [27] 王运斌, 江良荣, 黄荣裕, 黄育民, 郑景生. 一种高效省本的非变性聚丙烯酰胺凝胶电泳银染法的建立-以水稻为例. *福建稻麦科技*, 2015(3): 4-8
- Wang Y B, Jiang L R, Huang R Y, Huang Y M, Zheng J S. A high-efficiency and low cost method of DNA silver staining in non-denaturant polyacrylamide gel electrophoresis-an example based on rice. *Fujian Rice and Wheat Technology*, 2015(3): 4-8
- [28] He H G, Liu R K, Ma P T, Du H N, Zhang H H, Wu Q H, Yang L J, Gong S J, Liu T L, Huo N X, Gu Y Q, Zhu S Y. Characterization of *Pm68*, a new powdery mildew resistance gene on chromosome 2BS of Greek durum wheat TRI 1796. *Theoretical and Applied Genetics*, 2021, 134(1):

- [29] Li Y H, Wei Z Z, Sela H, Govta L, Klymiuk V, Roychowdhury R, Chawla H S, Ens J, Wiebe K, Bocharova V, Ben-David R, Pawar P B, Zhang Y Q, Jaiwar S, Molnár I, Doležel J, Coaker G, Pozniak G J, Fahima T. Dissection of a rapidly evolving wheat resistance gene cluster by long-read genome sequencing accelerated the cloning of *Pm69*. *Plant Communications*, 2023, 5(1): 100646
- [30] McIntosh R A, Dubcovsky J, Rogers W J, Xia X C, Raupp W J. Catalogue of gene symbols for wheat: 2020 supplement. *Annu Wheat Newsl*, 2020, 66: 116-117
- [31] Lillemo M, Asalf B, Singh R P, Huerta E J, Chen X M, He Z H, Bjornstad A. The adult plant rust resistance loci *Lr34/Yr18* and *Lr46/Yr29* are important determinants of partial resistance to powdery mildew in bread wheat line Saar. *Theoretical and Applied Genetics*, 2008, 116: 1155-1166
- [32] Maxwell J J, Lyerly J H, Srnicek G, Murphy J P, Cowger C, Parks R, Marshall D, Brown-Guedira G, Miranda L. A novel-derived powdery mildew resistance gene identified in common wheat. *Crop Sci*, 2012, 52(3):1162-1170
- [33] Reddy INBL, Chandrasekhar K, Zewdu Y, Dinoor A, Keller B, Bendavid R. Identification and genetic mapping of *PmA7DS* a powdery mildew resistance gene in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 2016, 129:1127-1137
- [34] Tosa Y, Sakai K. The genetics of resistance of hexaploid wheat to the wheat grass powdery mildew fungus. *Genome*, 1990, 33(2): 225-230
- [35] 杨立军, 曾凡松, 龚双军, 史文琦, 张学江, 汪华, 向礼波, 喻大昭. 68个主推小麦品种的白粉病抗性分析及基因推导. *中国农业科学*, 2013, 46(16): 3354-3368
- Yang L J, Zeng F S, Gong S J, Shi W Q, Zhang X J, Wang H, Xiang L B, Yu D Z. Evaluation of resistance to powdery mildew in 68 Chinese major wheat cultivars and postulation of their resistance genes. *Scientia Agricultura Sinica*, 2013, 46(16): 3354-3368
- [36] McIntosh R A, Zhang P, Cowger C, Parks R, Lagudah E S, Hoxha S. Rye-derived powdery mildew resistance gene *Pm8* in wheat is suppressed by the *Pm3* locus. *Theoretical and Applied Genetics*, 2011, 123(3): 359-367
- [37] Qi L L, Cao M S, Chen P D, Li W L, Liu D J. Identification, mapping, and application of polymorphic DNA associated with resistance gene *Pm21* of wheat. *Genome*, 1996, 39: 191-197
- [38] 曹廷杰, 陈永兴, 李丹, 张艳, 王西成, 赵虹, 刘志勇. 河南小麦新育成品种(系)白粉病抗性鉴定与分子标记检测. *作物学报*, 2015, 41(8): 1172-1182
- Cao T J, Chen Y X, Li D, Zhang Y, Wang X C, Zhao H, Liu Z Y. Identification and molecular detection of powdery mildew resistance of new bred wheat varieties (lines) in Henan Province, China. *Acta Agronomica Sinica*, 2015, 41(8): 1172-1182
- [39] 杜习军. 河南省小麦抗白粉病种质资源筛选及优异基因发掘. 西北农林科技大学, 2021
- Du X J. Powdery mildew resistant germplasms screening and excellent genes discovery in wheat (*Triticum aestivum* L.) of Henan province. Northwest A&F University, 2021
- [40] 李静婷, 刘子记. 中国小麦地方品种抗白粉病基因的发掘与定位. *湖北农业科学*, 2015, 54(17): 4113-4116
- Li J T, Liu Z J. Discovery and mapping of powdery mildew resistance gene in wheat landraces in China. *Hubei Agricultural Sciences*, 2015, 54(17): 4113-4116